



TITLE:

羊膜類の初期発生および多能性の 分子基盤の解明(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

中能, 祥太

CITATION:

中能, 祥太. 羊膜類の初期発生および多能性の分子基盤の解明. 京都大学
, 2015, 博士(理学)

ISSUE DATE:

2015-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k18836>

RIGHT:

学位規則第9条第2項により要約公開; 許諾条件により要約は
2016/03/23に公開; 許諾条件により要旨は2015/06/23に公開; 許諾条件
により本文は2018/01/10に公開

(続紙 1)

京都大学	博 士（理 学）	氏名	中能 祥太
論文題目	羊膜類の初期発生および多能性の分子基盤の解明		
(論文内容の要旨)			
<p>様々な細胞に分化できる多能性の細胞状態を規定する分子機構は、主に哺乳類の胚をモデルに研究されてきた。ゆえに、哺乳類以外の動物種で同様の機構が働くのか、明らかではない。特に、鳥類や爬虫類では初期発生の様式が哺乳類とは大きく異なっているため、これらの生物種間で多能性を制御する機構を比較し、その分子機構の保存性と多様性を調べることは羊膜類の初期発生を理解する上で重要である。</p> <p>そこで、まず鳥類と爬虫類の胚性細胞を無血清培地で培養し、哺乳類の多能性の制御において重要な役割を持つFgf/Erkシグナルを活性化または阻害し、その影響を調べることで、鳥類と爬虫類の胚性細胞におけるFgf/Erkシグナルの役割を検証した。また、多能性状態を作り出す転写因子を解析するため、マウスで多能性状態の樹立と維持に関わるNanogとPou5f1のニワトリホモログに対する特異的な抗体を作製し、胚や培養細胞でのこれらのタンパク質の発現を調べた。さらに、ニワトリにおいて多能性状態を支持する候補因子を網羅的な遺伝子発現解析から探索し、それらの機能をニワトリ胚性細胞の培養系を用いて解析した。</p> <p>それらの解析結果から、以下のような知見が得られた。①Fgf/Erkシグナルを阻害すると、ニワトリ・ウズラ・ヤモリ・スッポンの胚盤葉から、マウスのES細胞のコロニーに形態的に類似したドーム状のコロニーが形成された。一方で、原腸陥入時以降の胚からは、このようなコロニーが形成されず、むしろFgf/Erkシグナルの阻害下では細胞の生存と増殖が阻害された。このことから、胚体内の多能性を持つ未分化な細胞は、原腸陥入を境に多能性を失い、Fgf/Erkシグナル依存的な増殖に移行することが示唆された。②遺伝子を導入した293T細胞とニワトリ組織の免疫染色によって、作製した抗体がニワトリのNanogとPouVを高い特異性で認識することを確認した。これらの抗体を用いて、多能性を持つepiblastの細胞や始原生殖細胞でNanogが特異的に発現することが明らかになった。また、これまで報告されていたPouVの遺伝子構造を修正し、新規に追加されたN末端のアミノ酸配列にもとづいてPouV遺伝子の分子進化を考察した。③ニワトリの胚では原腸陥入期以降、多能性が失われることが明らかとなったことから、多能性を正に制御する因子が原腸陥入前に機能していると考え、この仮説に合った発現動態を示す遺伝子を探索した。その結果、Jak/Statシグナルが、ニワトリ胚の細胞の多能性を正に制御している可能性が示され、人為的な活性制御の実験からもその可能性が支持された。</p> <p>このように、哺乳類で多能性を制御する分子経路を鳥類と爬虫類で検証した結果、哺乳類で多能性を維持するのに重要と言われている転写因子のうち、Nanogの機能は種間で共通しているが、PouVの機能は多様化していることが示唆された。一方、シグナル経路による多能性状態の制御は種を越えてよく保存されていることが示され、Jak/Stat依存的な多能性の状態からFgf/Erk依存的な分化状態への移行が、羊膜類の初期発生に一般的に見られる基本原理であることを示唆した。</p>			

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

多能性の獲得あるいは維持機構は主にマウスのES細胞を用いて行われてきた。その結果として、山中伸弥氏による山中4因子が同定され、それら4因子を導入することで分化した細胞から多能性幹細胞が作られた(iPS細胞と命名される)。しかし、それら山中4因子を鳥類や他の動物に導入してもiPS細胞が簡単にできないことから、山中4因子は哺乳類に特化した多能性因子であることが推測された。本研究は、そういった背景をもとに、羊膜類全般に共通の、あるいは羊膜類で多様化した多能性の分子機構を探索する目的で研究が行われている。それらの研究から、シグナル系については普遍性が見出されたものの、それらのシグナルにもとづいて実行される多能性を付加する遺伝子プログラムに多様化があることを示唆した。特に、山中4因子の一つとして広く知られているOct3/4(Pou5f1)遺伝子が、鳥類のゲノムには存在しないこと示す決定的な証拠を得た意義は大きい。すなわち、Nanogをコアとする羊膜類に共通の多能性制御機構に、哺乳動物ではOct3/4(Pou5f1)遺伝子を使うことで胎盤の細胞系譜を作って胎盤を進化させたという新たなシナリオが作られ、哺乳動物の進化に新たな視点を与えた意義は大きい。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、平成27年1月14日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

なお、本論文は、京都大学学位規程第14条第2項に該当するものと判断し、公表に際しては、(平成28年3月23日までの間)当該論文の全文に代えてその内容を要約したものとすることを認める。

要旨公表可能日：平成27年6月23日以降